

11 DONNEES ACTUELLES SUR LES MECANISMES DE L'ASBESTOSE : L'ALVEOLITE INITIALE ET LE DEVELOPPEMENT DE LA FIBROSE	274
1. Modèles expérimentaux	274
2. L'alvéolite initiale	276
2.1. Données fournies par le lavage bronchoalvéolaire chez le sujet exposé à l'amiante.	276
2.2. Analyse du rôle du macrophage alvéolaire au cours de la réaction inflammatoire initiale	276
3. La fibrose pulmonaire	279
3.1. Interactions macrophage - fibroblaste	280
3.2. Lymphocyte pulmonaire : Interaction lymphocyte pulmonaire - fibroblaste	282
3.3. Cellule épithéliale bronchique et alvéolaire et processus fibrosant.	283
Références bibliographiques	284

11

Données actuelles sur les mécanismes de l'asbestose : l'alvéolite initiale et le développement de la fibrose

La conjonction des travaux réalisés à partir de cellules d'origine variée (animales ou humaines), de modèles expérimentaux animaux qui permettent de moduler les voies d'administration des fibres, la dose utilisée mais aussi la cadence des expositions, et enfin les constatations effectuées chez les sujets exposés professionnellement à l'amiante, par l'intermédiaire des cellules du lavage broncho-alvéolaire ont abouti à une meilleure connaissance, bien qu'encore incomplète et parfois contradictoire, des mécanismes physiopathologiques à l'origine de la fibrose pulmonaire et de la cancérogénicité de l'amiante.

1. Modèles expérimentaux

Chez l'homme, les manifestations respiratoires liées à l'amiante résultent soit d'expositions répétées pendant de longues périodes de temps, soit d'expositions plus intermittentes par pics successifs souvent difficiles à identifier et quantifier. Seule l'expérimentation animale a permis d'analyser les étapes successives qui conduisent au développement d'une alvéolite initiale puis d'une fibrose, laquelle constitue l'aboutissant lointain d'agressions répétées. Plusieurs modèles animaux ont été successivement explorés soit chez le rat, soit chez des animaux de plus grande taille comme le mouton, susceptibles d'une survie plus longue autorisant dans des conditions plus proches de la pathologie humaine, l'établissement des lésions fibreuses touchant le parenchyme ou la plèvre. Plusieurs types d'exposition aux fibres d'amiante ont été utilisés : instillation intra-trachéale directe ou exposition par inhalation de fibres d'amiante, cette dernière modalité plus proche de la réalité clinique ayant l'inconvénient d'un contrôle moins précis de la charge coniotique.

Chez le rat, l'exposition à l'amiante entraîne un dépôt sélectif des fibres d'amiante au niveau des bifurcations des canaux alvéolaires au delà de la

bronchiole terminale (Brody *et al.*, 1981 ; Pinkerton *et al.*, 1984 ; Warheit *et al.*, 1984). Il s'y associe dans un délai de 12 à 24 h un afflux localisé de macrophages alvéolaires, lesquels libèrent dans leur proche environnement, différents facteurs chémoattractants comme le leucotriène B₄, l'interleukine 8, ou des fractions du complément comme le C5a. Cette production par le macrophage alvéolaire de facteurs chémoattractants explique l'importante neutrophilie initiale (Adamson & Bowden, 1982). Ultérieurement, la neutrophilie régresse mais l'afflux de macrophages dans les alvéoles et l'interstitium s'amplifie et se pérennise conduisant à la sécrétion de facteurs profibrosants (Perdue & Brody, 1994).

L'autre modèle largement étudié est le mouton. Il permet une analyse séquentielle des phénomènes sur une plus longue durée. Après inhalation de fibres de chrysotile, l'alvéolite initiale (Bégin *et al.*, 1983 ; Bégin *et al.*, 1981) est dominée par un afflux des phagocytes mononucléés (monocytes et macrophages) dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire et l'interstitium. Au deuxième mois, apparaît une lymphocytose endoalvéolaire puis entre le 6ème et le 13ème mois le développement d'une fibrose pulmonaire : elle intéresse d'abord l'espace péribronchiolaire puis gagne l'interstitium pour aboutir à une fibrose pulmonaire diffuse (Rola-Pleszczynski *et al.*, 1981).

Plusieurs éléments intéressants ressortent de l'expérimentation animale :

- la notion d'une susceptibilité individuelle comme le démontrent Bégin *et al.* (1990) chez le mouton : l'intensité des lésions apparaissant pour une part liée à une rétention accrue des fibres au niveau des espaces aériens distaux.
- le rôle aggravant de la poursuite de l'exposition sur des lésions déjà constituées (Bégin *et al.*, 1991) : par rapport à un groupe d'animaux porteurs d'une asbestose mais dont l'exposition a cessé, on observe en cas de poursuite de l'inhalation une aggravation des lésions radiologiques et histopathologiques, conduisant à une surmortalité dans ce deuxième groupe.

L'expérimentation animale permet aussi d'évaluer la relation dose-effet : la plupart des travaux ont conduit à utiliser des quantités massives de fibres, largement supérieures aux concentrations rencontrées en clinique humaine. Un travail récent de Quinlan *et al.* (1994) a analysé les effets de concentrations plus modestes allant de 0,1 à 10 mg de crocidolite par m³ d'air. Les paramètres analysés sont l'expression des ARN messagers codant pour des gènes impliqués dans la défense antioxydante (superoxyde dismutase) ou dans les processus de prolifération cellulaire (c-jun ou ornithine decarboxylase). Ces marqueurs n'apparaissent significativement augmentés qu'en cas d'exposition à doses élevées et dans des délais variables après l'exposition en fonction du marqueur considéré. Cependant, en dépit d'une expression accrue des ARN messagers codant pour les gènes des enzymes impliquées dans la défense antioxydante, ce mécanisme de « compensation » n'entraîne pas de réduction significative de la réaction inflammatoire : l'induction des enzymes antioxydantes, face à une exposition de fibres minérales reste donc insuffisante pour protéger efficacement le poumon contre ce type d'agression. Ces résultats

démontrent à la fois la complexité de la réponse pulmonaire à l'agression et les difficultés d'interprétation des données biologiques acquises par l'expérimentation animale.

2. L'alvéolite initiale

2.1. Données fournies par le lavage bronchoalvéolaire chez le sujet exposé à l'amiante

La technique du lavage broncho-alvéolaire a permis d'appréhender la nature exacte des anomalies cellulaires observées au niveau des espaces aériens périphériques chez le sujet exposé à l'inhalation de fibres d'amiante. L'élément dominant est la constatation d'une alvéolite macrophagique (Bignon *et al.*, 1978 ; Robinson *et al.*, 1986). Il existe aussi, que le sujet soit fumeur ou non, une alvéolite à neutrophiles (Bignon *et al.*, 1978 ; Xaubet *et al.*, 1986) : cet afflux modeste (3 à 5 % du total cellulaire) est attribuée à la production par le macrophage alvéolaire, de leucotriène B₄ (Garcia *et al.*, 1986). Plus rarement quelques éosinophiles accompagnent la neutrophilie mais cette éosinophilie locale constitue un paramètre inconstant et accessoire.

En ce qui concerne l'analyse des populations lymphocytaires les résultats diffèrent selon les auteurs, mais aussi en fonction du pool cellulaire exploré. Il semble exister une diminution du nombre de lymphocytes circulants chez le patient atteint d'asbestose et une diminution de la réponse aux mitogènes. Tsang *et al.* (1988) retrouvent aussi une diminution de la fonction « natural killer ». Quand l'analyse porte sur les lymphocytes pulmonaires, on observe chez 30 % des patients une composante lymphocytaire (Costabel *et al.*, 1983 ; Delcros *et al.*, 1989 ; Gellert *et al.*, 1985 ; Wallace *et al.*, 1989) avec une augmentation du rapport CD4/CD8 et une réponse réduite aux lectines (phyto-hémagglutinine et concanavaleine A). Cette lymphocytose endoalvéolaire n'est cependant pas la règle : l'alvéolite consécutive à l'exposition à l'amiante est d'ordinaire une alvéolite macrophagique et les patients porteurs d'une lymphocytose endoalvéolaire représentent un sous groupe dont il serait intéressant d'évaluer le devenir par rapport à l'ensemble des populations exposées (Rom & Travis, 1992).

2.2. Analyse du rôle du macrophage alvéolaire au cours de la réaction inflammatoire initiale

Représentant la première ligne de défense face aux particules inhalées, le macrophage alvéolaire participe et module la réaction inflammatoire locale.

- LE MACROPHAGE ALVEOLAIRE ET/OU INTERSTITIEL : ETUDES *IN VITRO*

Le macrophage après phagocytose de particules d'amiante libère en quantité abondante, et de façon dose-dépendante, radicaux libres, dérivés de l'acide arachidonique et cytokines (Mossman & Sesko, 1990).

Concernant la production de radicaux libres (Donaldson *et al.*, 1990 ; Ghio *et al.*, 1992 ; Hansen & Mossman, 1987 ; Kamp *et al.*, 1992 ; Mossman & Marsh, 1989), deux mécanismes principaux ont été décrits : le premier concerne la génération de radicaux libres après phagocytose de particules fibreuses par le macrophage ou le polynucléaire : l'ingestion de la particule minérale entraîne une brusque augmentation du métabolisme oxydatif ; lorsque la taille de la particule est supérieure à celle de la cellule phagocytaire, la phagocytose est incomplète et l'activation cellulaire se prolonge au delà de la période d'exposition. Les fibres d'amiante sont capables aussi de générer des radicaux libres dans un système a-cellulaire (Zalma *et al.*, 1988). Cette génération de radicaux libres notamment du radical hydroxyl (OH^\bullet) dépend de la concentration en fer à la surface de la fibre, elle est inhibée en présence de chélateurs de fer comme la déféroxamine qui capture les ions ferriques et réduit la capacité des fibres d'amiante à produire des radicaux libres et les phénomènes de toxicité cellulaire qui en résultent.

Les conséquences de cette génération des radicaux libres sont nombreuses : toxicité cellulaire directe, peroxydation lipidique, mais aussi altérations de l'ADN et des processus de réparation de l'ADN (Mossman & Marsh, 1988, 1991 ; Petruska *et al.*, 1990). Mossman *et al.* (1990) ont montré la réduction de la toxicité pulmonaire et du processus fibrosant après inhalation de conjugués polyéthylène-glycol-catalase chez le rat exposé à l'amiante ; on observe aussi une adaptation de la réponse à l'agression oxydante conduisant à un accroissement de la teneur en enzymes antioxydantes après exposition à l'amiante (Jansen *et al.*, 1992). Il est intéressant d'observer que le traitement par la déféroxamine altère la production de TNF α (tumor necrosis factor) par le macrophage, démontrant indirectement le rôle du fer et des radicaux libres dans la génération de certaines cytokines par le macrophage alvéolaire (Simeonova & Luster, 1995). Le stress oxydatif induit par l'amiante n'a donc pas seulement un effet cytotoxique direct mais est impliqué également dans la production de cytokines pro-inflammatoires.

Le macrophage alvéolaire libère aussi des agents chimiotactiques (Garcia *et al.*, 1989 ; Hayes *et al.*, 1990 ; Kagan *et al.*, 1983) capables de recruter localement et d'activer des cellules inflammatoires (neutrophiles ou lymphocytes) mais aussi des cellules venues de l'interstitium comme les fibroblastes. Parmi les produits issus du métabolisme de l'acide arachidonique, le leucotriène B4 (LTB4) joue un rôle important : c'est un agent chémotactique puissant pour les leucocytes ; il est capable aussi d'amplifier la production du TNF α . Dubois *et al.* (1989) ont démontré que silice et chrysotile induisent la production et la sécrétion de LTB4 et de TNF α ; Driscoll *et al.* (1995) avec la crocidolite démontrent une sécrétion accrue, dose-dépendante de LTB4 et TNF, alors que la stimulation par d'autres particules comme l'oxyde de titane ou d'aluminium ne le font pas. Un travail récent (Leikauf *et al.*, 1995) montre d'ailleurs que certaines fibres de céramique, dotées des mêmes caractéristiques physiques (en

termes de longueur, diamètre, propriétés de surface) que l'amiante sont capables après addition *in vitro* pendant 24 heures à une culture de macrophages alvéolaires de rat d'induire une sécrétion de TNF α et de LTB4 d'amplitude proche de l'amiante.

L'exposition aux fibres d'amiante entraîne aussi la production de très nombreuses cytokines : tumor necrosis factor (TNF α), interleukine 1 (Perkins *et al.*, 1993 ; Zhang *et al.*, 1984). Le TNF α possède de puissantes activités proinflammatoires liées à la fois à sa capacité d'induction des molécules d'adhérence à la surface des endothélium et épithélium mais aussi à sa capacité de stimulation d'autres cytokines et en particulier des chémokines telles que l'IL-8, le macrophage inflammatory protein (MIP-2) et le monocyte chemotactic peptide 1 (MCP-1). L'importance du TNF α dans le développement ultérieur de la fibrose a été bien démontré dans la silicose expérimentale : Piguet *et al.* (1990) ont démontré à la fois le rôle du TNF dans l'initiation du processus fibrosant et la réduction de la production de collagène au niveau pulmonaire après immunisation passive de la souris par des anticorps anti-TNF α . La place du TNF α dans la physiopathologie de l'asbestose est moins bien élucidée : la production de TNF α est augmentée mais il existe aussi un processus de « down-regulation » de la production de TNF α chez l'animal exposé à l'amiante. Cette diminution de la sécrétion de TNF α va de pair avec une réduction de l'expression du gène ce qui semble démontrer la possibilité d'une modulation bidirectionnelle de la production de TNF α au cours de la réaction inflammatoire consécutive à l'inhalation de fibres (Ouellet *et al.*, 1993).

D'autres monokines sont aussi impliquées telles que l'interleukine 1 (IL-1) et son antagoniste naturel, l'IL-1 récepteur antagoniste (IL1 - r.a). On sait que l'exposition des rats aux particules de silice ou d'amiante s'accompagne de la production d'IL-1. Pour contrebalancer cette activité proinflammatoire et fibrosante de l'IL-1, le macrophage a la capacité, dans les mêmes conditions d'exposition, de sécréter la prostaglandine E2 qui inhibe partiellement les effets de l'IL-1. L'autre inhibiteur sélectif est l'IL-1 récepteur antagoniste, produit à l'état physiologique par le macrophage, et qui participe à l'homéostasie de la réponse immunitaire alvéolaire : chez les travailleurs exposés à l'amiante, la sécrétion accrue d'IL-1 par le macrophage est associée à une production réduite d'IL-1 r.a, suggérant chez ces malades un déséquilibre de la balance naturelle IL-1 - IL1 r.a (Kline *et al.*, 1993).

Les expériences menées *in vitro* avec des macrophages issus d'espèces différentes objectivent des différences en fonction des espèces étudiées : après administration d'une quantité identique de chrysotile, le macrophage alvéolaire humain ou de primate est plus sensible à l'agression asbestosique que celui du rat (Schimmelfeng & Seidel, 1991). L'activité cytotoxique varie aussi en fonction du type de fibres et de leur durée de vie à l'intérieur du phagocyte. La capacité de dissolution après phagocytose dépend pour une part de la longueur de la fibre : les fibres de chrysotile \leq à 8 μ m ont une demi-vie de l'ordre de 10

à 30 jours, les fibres longues (≥ 16 nm) sont difficilement phagocytées par le macrophage alvéolaire et ont une demi-vie supérieure à 100 jours (Noble *et al.*, 1991).

• LE MACROPHAGE ALVEOLAIRE HUMAIN : DONNEES FOURNIES PAR LE LAVAGE BRONCHO-ALVEOLAIRE CHEZ LES PATIENTS EXPOSES A L'AMIANTE

La technique du lavage broncho-alvéolaire a permis d'approcher directement le niveau d'activation des populations cellulaires endoalvéolaires chez des sujets exposés à l'amiante, qu'ils soient apparemment sains ou porteurs d'une des manifestations respiratoires de l'amiante. Le tableau 1 reflète la diversité des substances libérées par le macrophage de patients exposés à l'amiante, soit spontanément soit après stimulation par divers activateurs non spécifiques comme le LPS (lipopolysaccharide) ou le PMA (phorbol myristate acetate). Cette approche permet aussi l'identification dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire de médiateurs libérés directement par le macrophage dans le liquide alvéolaire, mais aussi la présence de produits issus de la dégradation du collagène.

Pour évaluer la pertinence en clinique, des données fournies par le lavage broncho-alvéolaire, Schwartz *et al.* (1993) ont cherché à corréler critères d'activation macrophagique et constatations cliniques. 93 patients, tous exposés professionnellement à l'amiante ont bénéficié d'un bilan fonctionnel respiratoire, d'un examen tomodensitométrique du thorax et d'un lavage broncho-alvéolaire comportant le dosage de la fibronectine dans le liquide et de 3 paramètres d'activation macrophagique : prostaglandine E_2 , interleukine 1β (IL1 β) et TNF α . Il n'existe pas de corrélation significative entre la sévérité de l'atteinte fonctionnelle ou l'étendue des anomalies radiologiques et la concentration en IL1 β et TNF α dans les surnageants de macrophages : seule la teneur élevée en fibronectine est reliée à l'existence d'un trouble ventilatoire restrictif. Ces résultats témoignent des difficultés à rattacher désordres cliniques et anomalies biologiques à un moment précis. Le lavage broncho-alvéolaire, s'il constitue une méthode d'investigation intéressante pour analyser les mécanismes, n'apporte pas d'information suffisamment fiable pour quantifier chez un patient donné le dommage subi.

3. La fibrose pulmonaire

Lors de l'étape initiale d'alvéolite, le macrophage, cellule pivot de la réaction inflammatoire sécrète dans son environnement toute une série de médiateurs, les uns fibrosants, d'autres au contraire dotés d'un potentiel antifibrosant comme la prostaglandine E_2 ou l'interféron gamma. Le macrophage alvéolaire en liaison avec d'autres cellules présentes dans son environnement (lymphocytes pulmonaires, cellule épithéliale...) va donc agir au niveau des cellules de structure et notamment du fibroblaste.

3.1. Interactions macrophage - fibroblaste

Le macrophage alvéolaire ou interstitiel représente un élément clé dans le développement de la fibrose, les autres cellules inflammatoires lymphocytes T, neutrophiles, mastocytes n'intervenant qu'en deuxième ligne. Ces interactions macrophage-fibroblaste s'établissent à deux niveaux : d'une part le macrophage, par la production de facteurs chimotactiques spécifiques participe au recrutement des cellules fibroblastiques elles-mêmes, d'autre part il agit par l'intermédiaire de facteurs de croissance sur la multiplication des cellules mésenchymateuses et la synthèse du collagène.

- SECRETION PAR LE MACROPHAGE D'AGENTS CHEMOATTRACTANTS VIS A VIS DU FIBROBLASTE
Plusieurs travaux expérimentaux (Inamoto *et al.*, 1993 ; Lemaire *et al.*, 1985) ont démontré la sécrétion accrue d'un facteur chémoattractant pour le fibroblaste après exposition à l'amiante. La nature de ce facteur est mal connue et n'est probablement pas univoque : la fibronectine, diverses cytokines dérivées du macrophage comme l'interleukine 1, le transforming growth factor β (TGF β) ou le platelet-derived growth factor (PDGF) possèdent cette capacité de chémoattraction du fibroblaste. Ainsi Orsonio-Vargas *et al.* (1990) ont démontré que le PDGF, obtenu après stimulation du macrophage par des fibres d'amiante, est directement chimotactique pour le fibroblaste pulmonaire de rat.

- FACTEURS DE CROISSANCE FIBROBLASTIQUE

A partir de macrophages obtenus par lavage broncho-alvéolaire chez le rat ou le mouton exposé à l'amiante, on observe dans le surnageant des macrophages en culture ou par l'intermédiaire de systèmes de co-culture en présence de fibroblastes (Goldstein *et al.*, 1982), la présence d'un facteur de croissance fibroblastique. Sa production se prolonge dans le temps et est corrélée à la présence de lésions de fibrose chez les animaux exposés (Lemaire *et al.*, 1983). La nature exacte de ce facteur de prolifération fibroblastique n'est pas complètement élucidée mais il existe plusieurs candidats potentiels tels que le PDGF ou l'insulin growth factor 1 (IGF-1), le transforming growth factor β (TGF β), et plus accessoirement le GM-CSF (granulocyte macrophage-colony stimulating factor).

Le platelet derived growth factor (PDGF) joue un rôle déterminant dans la prolifération des fibroblastes et accessoirement de la fibre musculaire lisse. Il existe sous différents isoformes : homo ou hétérodimères faits de deux chaînes A et B (isoformes AA, AB, BB) qui interfèrent avec deux types de récepteurs a et b qui ont eux aussi une structure homo ou dimérique. De nombreuses cellules sont potentiellement capables de produire le PDGF (cellules épithéliales, endothélium, fibres musculaires lisses, plaquettes...) mais les deux sources principales sont le macrophage alvéolaire ou interstitiel et le fibroblaste lui même.

Au cours de la fibrose pulmonaire, il y a libération accrue de PDGF par le macrophage alvéolaire (Martinet *et al.*, 1987) ; cette production accrue résulte de l'activation de l'oncogène *c-sis* qui code pour la chaîne B du PDGF et elle est amplifiée sous l'effet de l'interféron gamma (Shaw *et al.*, 1991). L'exposition du macrophage aux fibres d'amiante est capable de stimuler directement la production du PDGF et donc d'induire la prolifération fibroblastique (Bonner *et al.*, 1991).

Mais les fibres d'amiante sont capables d'interférer au niveau du fibroblaste pulmonaire lui-même : l'exposition *in vitro* aux fibres de chrysotile amplifie l'expression des récepteurs alpha pour le PDGF au niveau de la membrane (Bonner *et al.*, 1993) mais aussi la capacité de production du PDGF lui-même, apportant ainsi la preuve d'une boucle d'amplification autocrine (Lasky *et al.*, 1995). Un autre mode d'action du PDGF est aussi sa capacité de chémoattraction vis à vis du fibroblaste (Orsonio-Vargas *et al.*, 1990). Tous ces éléments, établis *in vitro* suggèrent un rôle déterminant de l'amiante dans l'induction de la fibrogénèse.

L'insulin growth factor-1 (IGF-1) est le deuxième facteur de croissance impliqué dans la fibrose asbestosique. Il représente un facteur dit « de progression » de la croissance fibroblastique, c'est à dire qu'il permet aux fibroblastes de passer du stade G1 au stade S et d'enclencher la synthèse de l'ADN (Rom *et al.*, 1989). Il a été montré récemment que les fibres de chrysotile entraînent une expression accrue de l'ARN messenger codant pour l'IGF-1 dans les macrophages dérivés de la moelle osseuse (Noble *et al.*, 1991). Rom et Paako (1991) ont démontré après exposition du macrophage alvéolaire aux fibres d'amiante, une expression accrue de l'ARN messenger codant pour l'IGF-1, en même temps qu'une sécrétion de la protéine correspondante. Il semble d'ailleurs exister une certaine spécificité de l'amiante par rapport à d'autres particules minérales : l'augmentation de l'expression de l'ARN messenger codant pour l'IGF-1 est obtenue après exposition à l'amiante ou à une substance profibrosante de référence comme la bléomycine, alors que les particules de silice restent sans effet sur ce paramètre.

D'autres facteurs de croissance comme le TGF- β qui agit de façon indirecte par induction du PDGF, et le GM-CSF sont impliqués dans la fibrose mais leur intervention directe dans la fibrose asbestosique n'est pas démontrée (Gauldie *et al.*, 1993).

• MACROPHAGE ET REGULATION DE LA SYNTHÈSE DU COLLAGÈNE

À côté de la sécrétion de cytokines et de facteurs de croissance, le macrophage libère aussi de nombreuses protéases qui dégradent la matrice extracellulaire (Arden & Adamson, 1992). Plusieurs composants de cette matrice extracellulaire sont retrouvés dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire tels la fibronectine, les fragments de collagène, ou l'acide hyaluronique. La production d'acide hyaluronique est présente à la fois au niveau alvéolaire et interstitiel et apparaît précéder la réaction fibrosante (Cantin *et al.*, 1992). Il est

intéressant d'observer que l'acide hyaluronique stimule la production de cytokines (IL1- β , TNF α) mais aussi des facteurs de croissance comme l'IGF-1 : l'induction d'IGF-1 est médiée par le récepteur de l'acide hyaluronique (le CD44) présent à la surface du macrophage. Les composants de la matrice extracellulaire et notamment l'acide hyaluronique apparaissent donc par l'interaction de cette molécule et de son récepteur (CD44), jouer un rôle important dans la régulation de la réaction inflammatoire et fibreuse (Noble *et al.*, 1993).

3.2. Lymphocyte pulmonaire : interaction lymphocyte pulmonaire - fibroblaste

Pour mieux comprendre le rôle du lymphocyte T, plusieurs travaux expérimentaux, menés *in vitro* ou *in vivo* chez l'animal immunodéficient permettent de souligner les effets majoritairement inhibiteurs des lymphocytes pulmonaires sur la fibrose. Corsini *et al.* (1994), ont analysé les effets de l'inhalation de chrysotile chez les souris immunodéficientes (souris nude ou souris SCID) : alors que la réponse inflammatoire locale immédiate est similaire à celle de souris normales, on observe à 2 mois chez la souris immunodéficiente un afflux cellulaire plus prononcé avec en parallèle un contenu accru en fibronectine et en hydroxyproline, ce qui suggère *a contrario* un rôle du lymphocyte dans la régulation des dégâts tissulaires. Ce contrôle lymphocytaire s'exercerait via l'interféron ($\text{IFN}\gamma$), dont on sait qu'il inhibe la production de collagène et la prolifération fibroblastique *in vitro*, mais d'autres lymphokines peuvent être incriminées. Le rôle protecteur du lymphocyte T vis à vis de la fibrose asbestosique est confirmée par les expériences de reconstitution des souris SCID par des lymphocytes T syngéniques.

Cette lymphocytose endoalvéolaire s'accompagne effectivement d'une production accrue d'interleukine 2 et surtout d'interféron γ . On sait que l'interféron joue un rôle clé dans l'activation macrophagique : ajouté *in vitro* à une culture de macrophages alvéolaires, il favorise la fusion cellulaire et la formation de cellules géantes ; il amplifie la synthèse d'IL-1 par le monocyte, il stimule la production des agents oxydants. Concernant le développement du processus de fibrose, l' $\text{IFN}\gamma$ apparaît ambivalent : il stimule la sécrétion de fibronectine mais à l'inverse il agit négativement sur l'expression de l'ARN messager des chaînes A et B du PDGF, exerçant ainsi un rôle inhibiteur de la synthèse du collagène par le fibroblaste. Un autre effet salutaire de l' $\text{IFN}\gamma$ est la stimulation de l'activité « natural-killer », qui est susceptible de jouer un rôle important dans le contrôle du développement tumoral chez les sujets exposés à l'amiante. Cette balance effets profibrosants-effets protecteurs traduit une probable fluctuation du contrôle lymphocytaire au cours des différentes phases de développement de la fibrose asbestosique (Sprince *et al.*, 1991).

3.3. Cellule épithéliale bronchique et alvéolaire et processus fibrosant

Parmi les facteurs chémoattractants impliqués dans le développement de la fibrose asbestosique, d'autres sont issus directement des cellules de l'épithélium bronchique (Holley *et al.*, 1992 ; Rosenthal *et al.*, 1994) ou alvéolaire. Rosenthal *et al.* (1994) ont montré récemment que les fibres de chrysotile et de crocidolite sont capables de stimuler directement le pneumocyte II (lignée A549) et à un degré moindre la cellule épithéliale bronchique humaine en induisant la sécrétion d'interleukine 8 (IL-8). Cette production d'IL-8 est indépendante d'une quelconque stimulation par l'IL-1 ou le TNF α ; elle n'est pas observée avec d'autres fibres non fibrogéniques et apparaît surtout résulter d'une activation des fibres d'amiantes sur la transcription de l'IL-8. Elle est de plus sélective : l'amiantes n'est pas capable d'induire directement la production, par le pneumocyte II, d'autres cytokines comme l'IL-1, le TNF α ou de chémokines comme le monocyte chémoattractant protein-1 (MCP-1). L'amiantes et plus précisément les fibres de crocidolite agissent aussi dans un modèle de cellules épithéliales trachéales de rat sur l'induction de facteurs de transcription. Janssen *et al.* (1995) ont montré que la crocidolite accroît la liaison au DNA de facteurs de transcription tel que le NF kappa B et l'activation transcriptionnelle des gènes qui dépendent de ce facteur et sont en fait directement impliqués dans le développement de l'inflammation mais aussi la prolifération cellulaire.

Produits de sécrétion du macrophage alvéolaire (Données recueillies par lavage broncho-alvéolaire chez les travailleurs exposés à l'amiantes).

Produits de sécrétion	Origine		Auteurs (Réf.)
	Macrophage	Liquide de lavage	
Radicaux libres	+		Mossman & Marsh (1989)
Prostaglandine E2	+		Schwartz <i>et al.</i> (1993)
Leucotriène B4	+		Garcia <i>et al.</i> (1989)
AM-derived NCF (*)	+		Hayes <i>et al.</i> (1990)
Interleukine 1- β	+		Perkins <i>et al.</i> (1993), Zhang <i>et al.</i> (1993) Kline <i>et al.</i> (1993), Schwartz <i>et al.</i> (1993)
IL-1 r.a. (**)	+		Kline <i>et al.</i> (1993)
Interleukine 6	+		Perkins <i>et al.</i> (1993)
TNF α	+		Zhang <i>et al.</i> (1993), Perkins <i>et al.</i> (1993), Schwartz <i>et al.</i> (1993)
Fibronectine		+	Bégin <i>et al.</i> (1986), Hayes <i>et al.</i> (1990)
Pro-collagène 3		+	Bégin <i>et al.</i> (1986)
Acide hyaluronique		+	Cantin <i>et al.</i> (1992)

(*) AM-derived NCF : alveolar macrophage derived neutrophil chemotactic factor,

(**) IL-1 r.a. : Interleukin 1-receptor antagonist

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ADAMSON IYR, BOWDEN DH. Chemotactic and mitogenic components of the alveolar macrophage response to particles and neutrophil chemoattractants. *Am J Path.* 1982, **109** : 71-77.

ARDEN MG, ADAMSON IR. Collagen synthesis and degradation during the development of asbestos induced pulmonary fibrosis. *Exp Lung Res.* 1992, **18** : 9-20.

BEGIN R, CANTIN A, MASSE S. Influence of continued asbestos on the outcome of asbestosis in sheep. *Exp Lung Res.* 1991, **17** : 971-984.

BEGIN R, CANTIN A, SEBASTIEN P. Chrysotile asbestos exposures can produce an alveolitis with limited fibrosing activity in a subset of high fibre retainer sheep. *Eur Respir J.* 1990, **3** : 81-90.

BEGIN R, MARTEL M, DESMARAIS Y, DRAPEAU G, BOILEAU R, ROLA-PLESZCZYNSKI M, MASSE S. Fibronectin and procollagen 3 levels in bronchoalveolar lavage of asbestos-exposed human subjects and sheep. *Chest* 1986, **89** : 237-243.

BEGIN R, ROLA-PLESZCZYNSKI M, MASSE S, LEMAIRE I, SIROIS P, BOCTOR M, NADEAU D, DRAPEAU G, BUREAU MA. Asbestos induced lung injury in the sheep model : the initial alveolitis. *Environ Res.* 1983, **30** : 195-210.

BEGIN R, ROLA-PLESZCZYNSKI M, SIROIS P, LEMAIRE I, NADEAU D, BUREAU MA, MASSE S. Early lung events following low-dose asbestos exposure. *Environ Res.* 1981, **26** : 392-401.

BIGNON J, ATTASSI K, JAURAND MC, YAMINE J, KAPLAN H, GESLIN P, SOLLE R, BIENTZ M. Etude cytologique et biochimique du liquide de lavage bronchoalvéolaire dans la fibrose pulmonaire idiopathique et l'asbestose. *Rev Fr Mal Resp.* 1978, **6** : 353-358.

BONNER JC, GOODELL AL, COIN PG, BRODY AR. Chrysotile asbestos upregulates gene expression and production of alpha receptors for PDGF-AA on rat lung fibroblasts. *J Clin Invest.* 1993, **92** : 425-430.

BONNER JC, ORSONIO-VARGAS AR, BADGETT A, BRODY AR. Differential proliferation of rat lung fibroblasts induced by the platelet derived growth factor (PGDF)-AA, AB, and BB isoforms secreted by rat alveolar macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1991 ; **5** : 539-549.

BRODY AR, HILL LH, ADKINS B, O'CONNOR RW. Chrysotile asbestos inhalation in rats : deposition pattern and reaction of alveolar epithelium and pulmonary macrophages. *Am Rev Respir Dis.* 1981, **123** : 670-679.

CANTIN AM, LARIVEE P, MARTEL M, BEGIN R. Hyaluronan (hyaluronic acid) in lung lavage of asbestos-exposed humans and sheep. *Lung* 1992, **170** : 211-220.

CORSINI E, LUSTER MI, MAHLER J, CRAIG WA, BLAZKA ME, ROSENTHAL GJA. Protective role for T lymphocytes in asbestos-induced pulmonary inflammation and collagen deposition. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1994, **11** : 531-539.

COSTABEL U, BROSS KJ, HUCK E, GUZMAN J, MATTHYS H. Lung and blood lymphocyte subsets in asbestosis and in mixed dust pneumoconiosis. *Chest* 1987, **91** : 110-112.

DELCROS GL, FLITCRAFT DG, BROUSSEAU KP, WINDSOR NT, NELSON DL, WILSON RK, LAWRENCE EC. Bronchoalveolar lavage analysis, gallium 67 lung scanning and soluble IL-2 receptor levels in asbestos exposure. *Environ Res.* 1989, **48** : 164-168.

DONALDSON D, SLIGHT J, BOLTON RE. Release of superoxide anion and hydrogen peroxide by macrophages in response to asbestos. In : *In vitro effects of mineral dusts*. Beck EG and Bignon J (Eds). Berlin - Springer Verlag 1985, p. 75-82.

DRISCOLL KE, MAURER JK, HIGGINS J, POYNTER J. Alveolar macrophage cytokine and growth factor production in a rat model of crocidolite-induced pulmonary inflammation and fibrosis. *J Toxicol Environ Health.* 1995, **46** : 155-169.

DUBOIS CM, BISSONNETTE E, ROLA-PLESZCZYNSKI M. Asbestos and silica particles stimulate rat alveolar macrophages to release tumor necrosis factor : autoregulatory role of leukotriene B4. *Am Rev Respir Dis.* 1989, **139** : 1257-1264.

GARCIA JGN, GRIFFITH DE, COHEN AB, CALLAGHAN KS. Alveolar macrophages from patients with asbestos exposure release increased levels of leukotriene B4. *Am Rev Respir Dis.* 1989, **139** : 1494-1501.

GAULDIE J, JORDANA M, COX G. Cytokines and pulmonary fibrosis. *Thorax* 1993, **48** : 931-935.

GELLERT AR, MACE MG, UTHAYAKUMAR S, NEWLAND AC, RUDD RM. Lymphocyte subpopulations in BAL fluid in asbestos workers. *Am Rev Respir Dis.* 1985, **132** : 824-827.

GHIO AJ, ZHANG J, PIANTADOSI CA. Generation of hydroxyl radical by crocidolite asbestos is proportional to surface (Fe^{3+}). *Arch Biochem Biophys.* 1992, **298** : 646-650.

GOLDSTEIN RH, MILLER K, GLASSROTH J. Influence of asbestos fibers on collagen and prostaglandin production in fibroblast and macrophage co-cultures. *J Lab Clin Med.* 1982, **100** : 778-785.

HANSEN K, MOSSMAN BT. Generation of superoxide anion (O_2^-) from alveolar macrophages exposed to asbestiform and non fibrous particles. *Cancer Res.* 1987, **47** : 1681-1686.

HAYES AA, VENAILLE TJ, ROSE AH, MUSK AW, ROBINSON BWS. Asbestos-induced release of a human alveolar macrophage-derived neutrophil chemoattractant factor. *Exp Lung Res.* 1990, **16** : 121-130.

HOLLEY JA, JANSSEN YMW, MOSSMAN BT, TEETGES D. Increased manganese superoxide dismutase protein in Type II epithelial cells of rat lungs after inhalation of crocidolite asbestos or cristobalite silica. *Am J Pathol.* 1992, **141** : 475-485.

INAMOTO T, GEORGIAN MM, KAGAN E, OGIMOTO K. Enhanced release of an alveolar macrophage derived chemoattractant for fibroblasts in rats after asbestos inhalation. *J Vet Med Sci.* 1993, **55** : 195-201.

JANSSEN YMW, BARCHOWSKY A, TREADWELL M, DRISCOLL KE, MOSSMAN BT. Asbestos induced nuclear factor kB (NF-kB) DNA-binding activity and NF-kB-dependent gene expression in tracheal epithelial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995, **92** : 8458-8462.

JANSSEN YMW, MARSH JP, ABSHER MP, HEMENWAY D, VACEK PM, LESHE KO, BORM PJA, MOSSMAN BT. Expression of antioxidant enzymes in rat lungs after inhalation of asbestos or silica. *J Biol Chem.* 1992, **267** : 10625-10630.

KAGAN E, OGHISO Y, HARTMANN DP. Enhanced release of a chemoattractant for alveolar macrophage after asbestos inhalation. *Am Rev Respir Dis.* 1983, **128** : 680-687.

KAMP DW, GRACEFFA P, PRYOR WA, WEITZMAN SA. The role of free radicals in asbestos-induced diseases. *Free Radical Biology Medicine* 1992, **12** : 293-315.

KLINE JN, SCHWARTZ DA, MONICK MM, FLOERCHINGER BA, HUNNINGHAKE GW. Relative release of Interleukin-1b and Interleukin-1 Receptor Antagonist by alveolar macrophages. A study in Asbestos-Induced Lung disease, sarcoidosis, and idiopathic pulmonary fibrosis. *Chest* 1993, **104** : 47-53.

LASKY JA, COIN PG, LINDROOS PM, OSTROWSKI LA, BRODY AR, BONNER JC. Chrysotile asbestos stimulated platelet-derived growth factor-AA production by rat lung fibroblasts in vitro : evidence for an autocrine loop. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1995, **12** : 162-170.

LEIKAUF GD, FINK SP, MILLER ML, DRISCOLL KE. Refractory ceramic fibers activate alveolar macrophage eicosanoid and cytokine release. *J Appl Physiol.* 1995, **78** : 164-171.

LEMAIRE I, MASSE S, BEAUDOIN H. Alveolar macrophage-derived growth factor for fibroblasts : a potential mediator of asbestos-induced fibrosis. In : « *In vitro effects of mineral dusts* », Beck EG, Bignon J (Eds.).vol. 63, NATO-ASI series Berlin Springer Verlag 1985, p. 459-465.

LEMAIRE I, ROLA-PLESZCZYNSKI M, BEGIN R. Asbestos exposure enhances the release of fibroblast growth factor by sheep alveolar macrophages. *J Reticuloendothel Soc.* 1983, **33** : 275-285.

MARTINET Y, ROM WN, GROTENDORST GR, MARTIN GR, CRYSTAL RG. Exaggerated spontaneous release of PDGF by alveolar macrophages from patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med.* 1987, **317** : 202-209.

MOSSMAN BT, MARSH JP. Evidence supporting a role for active oxygen species in asbestos induced toxicity and lung disease. *Environ Health Perspect.* 1989, **81** : 91-94.

MOSSMAN BT, MARSH JP. Role of active oxygen species in asbestos-induced cytotoxicity cell proliferation and carcinogenesis. In : *Cellular and molecular aspects of fiber carcinogenesis*. Harris CC, Lechner JF and Brinkley BR (Eds.) Cold Spring Harbor Laboratory Press 1991 : 159-168.

MOSSMAN BT, MARSH JP, SESKO A, HILL S, SHATOS MA, DOHERTY MA, PETRUSKA J, ADLER J, HEMENWAY KB, MICKEY D, VACEK R, KAGAN E. Inhibition of lung injury inflammation and interstitial fibrosis by polyethylene glycol-conjugated catalase in a rapid inhalation model of asbestosis. *Am Rev Respir Dis.* 1990, **141** : 1266-1271.

MOSSMAN BT, SESKO AM. In vitro assays to predict the pathogenicity of mineral fibers. *Toxicology* 1990, **60** : 53-61.

NOBLE PW, HENSON PM, RICHES DWH. IGF-1 mRNA expression in bone marrow-derived macrophages is stimulated by chrysotile asbestos. A potential marker for macrophage phenotypic differentiation. *Chest* 1991, **99** : 79 S-80 S.

NOBLE PW, LAKE FR, HENSON PM, RICHES DWH. Hyaluronate activation of CD44 induces insulin-like growth factor-1 expression by a tumor necrosis factor a dependent mechanism in murine macrophages. *J Clin Invest.* 1993, **91** : 2368-2377.

ORSONIO-VARGAS AR, BONNER JC, BADGETT A, BRODY AR. Rat alveolar macrophage derived platelet-derived growth factor is chemotactic for rat lung fibroblasts. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1990, **3** : 595-602.

OUELLET S, YANG H, AUBIN RA, HAWLEY RG, WENCKEBACH GFC, LEMAIRES I. Bidirectional modulation of TNF α production by alveolar macrophages in asbestos induced pulmonary fibrosis. *J Leukocyte Biol.* 1993, **53** : 279-286.

PERDUE TD, BRODY AR. Distribution of transforming growth factor (1, fibronectin and smooth muscle actin in asbestos-induced pulmonary fibrosis in rats. *J Histochem Cytochem.* 1994, **42** : 1061-1070.

PERKINS RC, SCHEULE RK, HAMILTON R, GLONES G, FREIDMAN G, HOLIAN A. Human alveolar macrophage cytokine release in response to in vitro and in vivo asbestos exposure. *Exp Lung Res.* 1993, **19** : 55-65.

PETRUSKA JM, MARSH J, BERGERON M, MOSSMAN BT. Brief inhalation of asbestos compromises superoxide production in cells from bronchoalveolar lavage. *Am J Resp Cell Mol Biol.* 1990, **2** : 129-136.

FIGUET PF, COLLART MA, GRAU GE, SAPPINO AP, VASSALLI P. Requirement for tumor necrosis factor for development of silica-induced pulmonary fibrosis. *Nature* (London) 1990, **344** : 245-247.

PINKERTON KE, PRATT PC, BRODY AR, CRAPO JD. Fiber localization and its relationship to lung reaction in rats after chronic inhalation of chrysotile asbestos. *Am J Pathol.* 1984, **117** : 484-490.

QUINLAN TR, MARSH JP, JANSSEN YMW, LESLIE KO, HEMENWAY D, VACEK P, MOSSMAN BT. Dose responsive increases in pulmonary fibrosis after inhalation of asbestos. *Am J Respir Crit Care Med.* 1994, **150** : 200-206.

ROBINSON BWS, BRUCE WS, ROSE AH, JAMES A, WHITAKER D, MUSK AW. Alveolitis of asbestosis. Bronchoalveolar lavage studies in crocidolite and chrysotile exposed individuals. *Chest* 1986, **90** : 396-402.

ROLA-PLESZCZYNSKI M, MASSE S, SIROIS P, LEMAIRE J, BEGIN R. Early effects of low-doses exposure to asbestos on local cellular immune responses in the lung. *J Immunol.* 1981, **127** : 2535-2538.

ROM WN, BASSET P, FELS GA, NUKIWA T, TRAPNELL BC, CRYSTAL RG. Alveolar macrophages release an insulin-like growth factor 1 type molecule. *J Clin Invest.* 1989, **82** : 1685-1693.

ROM WN, PAAKKO P. Activated alveolar macrophages express the insulin-like growth factor-1 receptor. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1991, **4** : 432-439.

ROM WN, TRAVIS WD. Lymphocyte-macrophage alveolitis in non smoking individuals occupationally exposed to asbestos. *Chest* 1992, **101** : 779-786.

ROSENTHAL GJ, GERMOLEC DR, BLAZKA ME, CORSINI E, SIMEONOVA P, POLLOCK P, LING-YUAN KONG, KWON J, LUSTER MI. Asbestos stimulates IL-8 production from human lung epithelial cells. *J Immunol.* 1994, **153** : 3237-3244.

SCHIMMELPFENG J, SEIDEL A. Cytotoxic effects of quartz and chrysotile asbestos : in vitro interspecies comparison with alveolar macrophages. *J Toxicol Environ Health* 1991, **33** : 131-140.

SCHWARTZ DA, GALVIN JR, FREES KL, DAYTON CS, BURMEISTER LF, MERCHANT JA, HUNNINGHAKE GW. Clinical relevance of cellular mediators of inflammation in workers exposed to asbestos. *Am Rev Respir Dis.* 1993, **148** : 68-74.

SHAW RJ, BENEDICT SH, CLARK RAF, KING TE. Pathogenesis of pulmonary fibrosis in interstitial lung disease. Alveolar macrophage PDGF (B) gene activation and up-regulation by interferon gamma. *Am Rev Respir Dis.* 1991, **143** : 167-173.

SIMEONOVA PP, LUSTER MI. Iron and reactive oxygen species in the asbestos-induced tumor necrosis factor a response from alveolar macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1995, **12** : 676-683.

SPRINCE NL, OLIVER LC, MCLLOUD TC, EISEN EA, CHRISTIANI DC, GINNS LC. Asbestos exposure and asbestos-related pleural and parenchymal disease. Associations with immune imbalance. *Am Rev Respir Dis.* 1991, **143** : 822-828.

TSANG PH, CHU FN, FISCHBEIN A, BEKESI JG. Impairments in functional subsets of T-suppressor (CD8) lymphocytes, monocytes, and natural killer cells among asbestos-exposed workers. *Clin Immunol Immunopathol.* 1988, **47** : 323-332.

WALLACE JM, OISHI JS, BABERS RG, BATRA P, ABERLE DR. Bronchoalveolar lavage cells and lymphocyte phenotypic profiles in healthy asbestos-exposed shipyard workers. *Am Rev Respir Dis.* 1989, **139** : 33-38.

WARHEIT DB, CHANG LY, HILL LH, GOOK GE, CRAPO JD, BRODY AR. Pulmonary macrophage accumulation and asbestos induced lesions at sites of fiber deposition. *Am Rev Respir Dis.* 1984, **129** : 301-310.

XAUBET A, RODRIGUEZ-ROISIN R, BOMBI J, MARIN A, ROCA J, AGUSTI-VIDAL A. Correlation of bronchoalveolar lavage and clinical and functional findings in asbestosis. *Am Rev Respir Dis.* 1986, **133** : 848-854.

ZALMA R, BONNEAU L, JAURAND MC, GUIGNARD J, PEZERAT H. Formation of oxyradicals by oxygen reduction arising from the surface activity of asbestos. *Can J Chem.* 1988, **65** : 2338-2343.

ZHANG Y, LEE TC, GUILLEMIN B, YU MC, ROM WN. Enhanced IL-1 b and TNFa release and messenger RNA expression in macrophages from idiopathic pulmonary fibrosis or after asbestos. *J Immunol.* 1993, **150** : 4188-4194.